

ITINERÁRIO DAS SEMENTES NUM BANCO DE GERMOPLASMA: MÉTODOS*

Filomena Rocha

Banco Português de Germoplasma Vegetal, INIAV, I.P., Quinta de São José, São Pedro de Merelim, 4700-859 Braga, Portugal; E-mail: filomena.rocha@iniav.pt

RESUMO

A conservação *ex situ* de sementes em bancos de germoplasma é um dos métodos mais utilizados para conservar a diversidade das plantas.

As sementes geralmente são de tamanho pequeno, facilmente manipuláveis, requerem baixa manutenção e, muitas vezes, permanecem viáveis por longos períodos.

O banco de sementes tem vantagens consideráveis em relação a outros métodos de conservação *ex situ*, como facilidade de armazenamento, economia de espaço, pouca exigência de mão-de-obra e, conseqüentemente, a capacidade de manter uma grande quantidade de amostras a um custo economicamente viável. É o principal método de conservação para espécies que produzem sementes ortodoxas. A maioria das espécies cultivadas, bem como das pastagens naturais produzem este tipo de sementes.

De acordo com o relatório da FAO (2010), o número total de acessos conservados em coleções *ex situ* é de cerca de 7,4 milhões, em mais de 1750 bancos de germoplasma no mundo. Mais de 90% destes acessos conservados são sementes.

A conservação sustentável destas coleções de sementes depende de uma gestão eficaz e eficiente dos bancos de germoplasma através da aplicação de normas e métodos que asseguram a sobrevivência e a disponibilidade destes recursos fitogenéticos, para a alimentação e a agricultura, dos quais a humanidade depende.

Os métodos utilizados no itinerário das sementes no BPGV nos últimos 40 anos são apresentados nesta comunicação.

PALAVRAS-CHAVE: Sementes, Limpeza, Secagem, Embalagem, Conservação.

* Comunicação apresentada na XXXIII Reunião de Outono da SPPF, Elvas, Novembro de 2011. Os trabalhos publicados neste volume são da inteira responsabilidade dos autores.

SEED ITINERARY IN A GENE BANK: METHODS

ABSTRACT

Ex situ conservation of seeds in genebanks is one of the most widely used approaches for conserving plant diversity.

Seeds are generally small in size, easily manipulable, require low maintenance and frequently remain viable for long periods.

Seed banking has considerable advantages over other methods of *ex situ* conservation such as ease of storage, economy of space, relatively low labour demands and consequently, the capacity to maintain large samples at an economically viable cost. It is the principal conservation method for species producing orthodox seeds. Most cultivated and natural pasture species produce seeds in this category.

FAO (2010) reports that the total number of accessions conserved in *ex situ* collections is about 7.4 million, in over 1750 genebanks around the world. More than 90% of these conserved accessions are seeds.

A sustainable conservation of these seeds collection depends on effective and efficient management of genebanks through the application of standards and methods that ensure the continued survival and availability of these plant genetic resources for food and agriculture on which humanity depends.

The methods of seed itinerary in BPGV in the last 40 years are presented in this communication.

KEYWORDS: Seeds, Cleaning, Drying, Packaging, Conservation.

1- INTRODUÇÃO

Os recursos fitogenéticos desempenham um papel fundamental na segurança alimentar e são uma fonte importante de germoplasma para satisfazer as necessidades da agricultura sustentável no contexto das alterações climáticas. A conservação dos recursos genéticos vegetais é uma prioridade estabelecida e reconhecida a nível mundial. Como estratégia para conservação *ex situ*, surgiram os bancos de germoplasma, que são estruturas destinadas a conservar o património genético das plantas. Em Portugal, as atividades de conservação dos recursos fitogenéticos tiveram início na década de setenta do século XX, inseridas no Programa de Recursos Genéticos para a Região Mediterrânica. Em 1977, com o apoio da *Food and Agriculture Organization of the United Nations / International Board*

for *Plant Genetic Resources* (FAO/IBPGR), foi criado o Banco Português de Germoplasma Vegetal (BPGV).

Atualmente o BPGV conserva um acervo de 44 752 acessos, de 255 espécies e 143 géneros de plantas cultivadas, silvestres e de parentes silvestres das plantas cultivadas, conservados sob a forma de semente e de propágulos, resultantes de 128 missões de colheita nacionais e internacionais. Do acervo conservado cerca de 99% são sementes.

2 – ATIVIDADES PARA A CONSERVAÇÃO DE SEMENTES

As amostras de sementes para serem incorporados ao acervo do BPGV são submetidas a uma sequência de atividades básicas e de rotinas (figura 1).

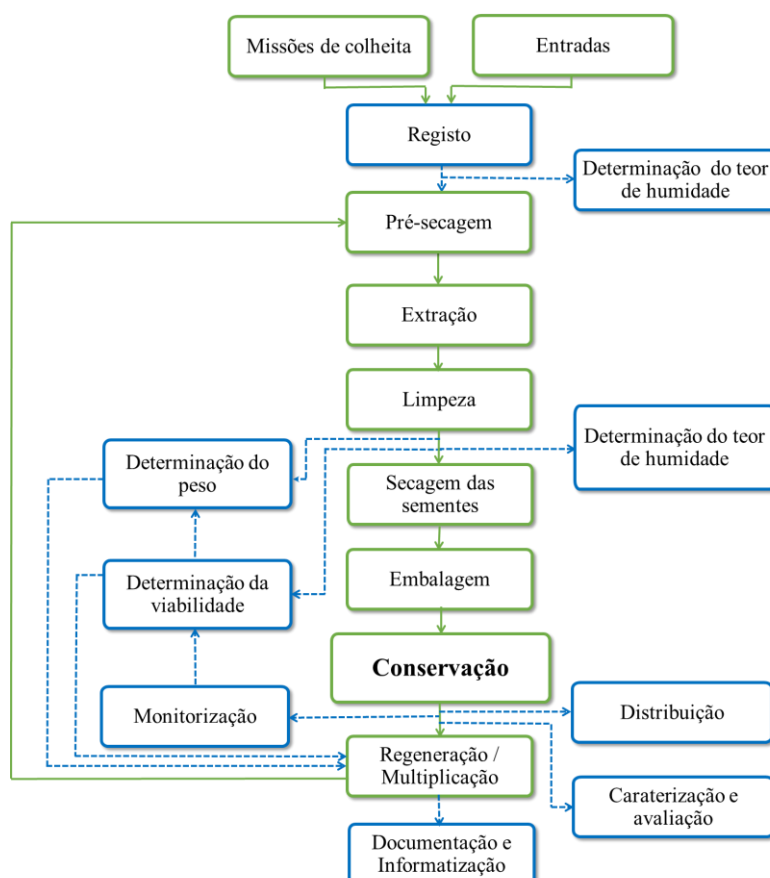


Figura 1 - Atividades para a conservação de sementes no BPGV.

Figure 1 - Seeds' conservation activities in BPGV.

Os métodos e procedimentos aplicados no registo, extração, limpeza, secagem, embalagem conservação, multiplicação e regeneração de sementes fundamentam-se nas orientações e regras estabelecidas internacionalmente no âmbito do IBPGR hoje denominado *Bioversity International* (Cromarty *et al.*, 1982; Engels & Visser, 2003; Rao *et al.*, 2006), do *European Native Seed Conservation Network* (ENSCONET, 2009) e da *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO, 2014).

Registo do acesso

O registo é a atribuição de um número de identificação exclusivo, chamado número de acesso utilizado para registar cada amostra de sementes recebida num banco de germoplasma e distingui-la das demais.

O registo do acesso é efetuado sempre que as amostras dão entrada pela primeira vez no BPGV. As amostras são organizadas por ordem numérica de colheita ou entrada de material e conferidas com as fichas de colheita ou a lista de material enviado. A cada amostra é atribuído um número de identificação único, denominado número de acesso (Exemplo: BPGV00233). Estes identificadores únicos e permanentes (número de acesso) não são reutilizáveis, mesmo no caso de perda ou eliminação do acesso.

Determinação do teor de humidade das sementes

As sementes após a colheita podem apresentar teores elevados de humidade.

No BPGV a determinação do teor de humidade de cada amostra é feita com recurso a um higrómetro. Sementes com percentagem de humidade entre 12-15% podem ser limpas em segurança. Sementes com percentagem de humidade superior a 15% devem ser sujeitas a uma pré-secagem.

Pré-secagem das sementes

A pré-secagem tem a finalidade de reduzir o teor de humidade das sementes a um nível adequado, reduzindo o risco de deterioração por ação de pragas e doenças e evitar que as sementes sofram danos durante a extração e limpeza.

Na pré-secagem as sementes extraídas de frutos carnudos podem ser colocadas a secar gradualmente, sem forçagem, nas condições ambientais (60-70% de humidade relativa, 20-30° C de temperatura, durante 1-2 semanas). As inflorescências, os frutos

secos deiscentes (folículo, vagem, siliqua, cápsula) e os frutos indeiscentes (aquênio, sâmara, cariopse, noz) são submetidas a uma pré-secagem de imediato. Para abreviar os tempos de secagem, as inflorescências e os frutos são distribuídas em camadas finas sobre peneiras num ambiente ventilado. A pré-secagem das inflorescências e frutos também pode ser realizada em estufas de circulação de ar forçado, à temperatura de 20-25° C, durante 3-5 dias, condições que dependem do teor de humidade inicial e da espécie.

Extração das sementes

Nas missões de colheita, realizadas pelo BPGV tanto se recolhem sementes como frutos (Barata *et. al.*,2017; Rocha *et. al.*,2017a; Rocha *et. al.*,2017b). No BPGV, como em muitos bancos de germoplasma, os acessos que dão entrada e que vêm a ser conservados são na sua maioria sementes, nas amostras de frutos é necessário realizar a extração das sementes, cujo procedimento varia com o tipo de fruto.

Extração de sementes de frutos secos deiscentes

Muitos frutos secos deiscentes (cápsulas, síliquas, folículos) abrem-se facilmente durante a secagem, quando estão distribuídos em camadas finas num ambiente com boa circulação de ar. A libertação física das sementes dos frutos varia com a espécie. Em algumas espécies, um movimento leve como pressioná-las, sacudi-las, ou deixá-las cair é suficiente para libertar todas as sementes.

Extração de sementes de frutos secos indeiscentes

As sementes de certas espécies mantêm uma forte união através do folículo e requerem extração manual ou mecânica. As sementes de frutos maiores (ex. feijão) são extraídas, abrindo cada fruto manualmente ou aplicando tratamento mecânico sem danificar as sementes (figura 2). Nos frutos mais pequenos (ex. couves) extraem-se as sementes, colocando-as em sacos e batendo-lhes com um pau. Frutos com o pericarpo duro podem ser ligeiramente pressionados ou friccionados com um rolo de madeira ou um martelo de borracha para extrair as sementes (figura 2).



Figura 2 - Extração de sementes de frutos secos indeiscentes.

Figure 2 - Extraction of seeds from dry indehiscent fruits.

Outro método de extração de sementes consiste em friccionar os frutos entre duas superfícies de borracha com ranhuras de 3 mm com cuidado para não escarificar ou esmagar as sementes (figura 3).



Figura 3 – Extração de sementes entre duas superfícies ásperas de borracha.

Figure 3 - Extraction of seeds between two rough rubber surfaces.

Extração de sementes de frutos carnudos

O método de extração de frutos carnudos varia com o tipo de fruto. As sementes são extraídas cortando o fruto em duas partes ou cortando a extremidade e espremendo os frutos para um recipiente.

No caso de frutos carnudos (ex. abóbora, melancia, melão, pepino, pimento) cortam-se os frutos com uma faca, extraem-se as sementes (figura 4), lavam-se em água corrente para retirar a polpa e mucilagem, limpam-se com uma toalha, colocam-se em camadas finas sobre peneiras e põem-se a secar. A mucilagem que aparece sobre as sementes, pode ser removida por fricção ligeira depois da secagem.



Figura 4 - Extração de sementes de frutos carnudos.

Figure 4 - Extraction of seeds from fleshy fruits.

No caso do tomate, cortam-se os frutos com uma faca, retiram-se as sementes e o líquido placentário e colocam-se em frascos de vidro, por um período de 24 a 48 horas, dependendo da temperatura ambiente. Após a fermentação natural, lavam-se as sementes em água corrente, limpam-se com uma toalha, colocam-se em camadas finas sobre peneiras e põem-se a secar (figura 5).



Figura 5 - Extração de sementes de tomate.

Figure 5 - Extraction of seeds from tomato.

Limpeza das sementes

A limpeza de sementes consiste na eliminação de material inerte, folhas e ramos, sementes danificadas e infetadas e sementes de outras espécies com o objetivo de melhorar a qualidade das amostras conservadas, evitar a propagação de pragas e doenças, economizar o espaço de armazenamento e reduzir os custos.

No BPGV, a maioria das sementes são limpas manualmente para evitar danos mecânicos e contaminação da amostra. São utilizados crivos de aço inoxidável, com malha metálica de diferentes tamanhos, que permitem a separação das sementes dos

resíduos (figura 6). Os crivos, tabuleiros e bancadas são limpos no final da limpeza de cada acesso, para evitar a contaminação da amostra com sementes de outras amostras.



Figura 6 - Limpeza de sementes com crivos.

Figure 6 - Cleaning seeds with sieves.

As amostras de sementes pequenas passam depois pelo *Seed blower* que permite separar e limpar as sementes dos resíduos com base na densidade (figura 7). É essencial limpar o aparelho com uma escova ou um soprador de ar entre cada amostra de semente para evitar contaminar a amostra com sementes de outras amostras.



Figura 7 - Limpeza de sementes com recurso ao *Seed blower*.

Figure 7 - Cleaning seeds with a Seed blower.

Sementes danificadas, sementes vazias e resíduos com peso similar às sementes, são removidos à mão. Na limpeza de sementes pequenas são utilizadas lupas (figura 8).



Figura 8 - Limpeza manual de sementes com recurso a lupa.

Figure 8 - Manual seed cleaning with magnifying glass.

No final da limpeza regista-se, para cada amostra, o peso de 1000 sementes e o peso total da amostra. A contagem das sementes é feita manualmente ou com o auxílio de contadores eletrónicos.

Determinação da viabilidade das sementes

A viabilidade de um lote de sementes é expressa em termos de percentagem de sementes vivas que podem dar origem a nova uma planta capaz de se reproduzir em condições de campo. As sementes com uma viabilidade inicial elevada sobrevivem durante mais tempo em armazenamento.

No BPGV utilizam-se os testes de germinação para determinar a viabilidade das sementes (figura 9). A viabilidade dos acessos é determinada antes de embalar as sementes para armazenar e em intervalos regulares durante o período de conservação.

No caso de espécies agrícolas utilizam-se 200 sementes (quatro réplicas de 50) por teste de germinação e no caso das espécies silvestres utilizam-se 100 ou mesmo 50 sementes (duas réplicas de 50 ou duas de 25).

Para a maioria das espécies cultivadas o valor inicial de germinação deve ser superior a 85%. Para as espécies silvestres, que normalmente não atingem valores tão elevados de germinação, aceita-se uma percentagem menor.

No BPGV, os métodos e procedimentos aplicados para os testes de germinação obedecem às diretrizes do IBPGR, IPGRI, hoje denominado *Bioversity International* (Ellis *et. al.*, 1985a; Ellis *et. al.*, 1985b; Rao *et. al.*, 2006) e seguem as regras internacionais para análise de sementes, estabelecidas pelo *International Seed Testing Association* (ISTA, 2011). Estas regras contêm, entre outras, recomendações de

substratos a serem utilizados para cada espécie, temperatura de incubação, necessidade de luz, períodos das contagens (inicial e final) e recomendações para quebrar a dormência das sementes, quando presente.

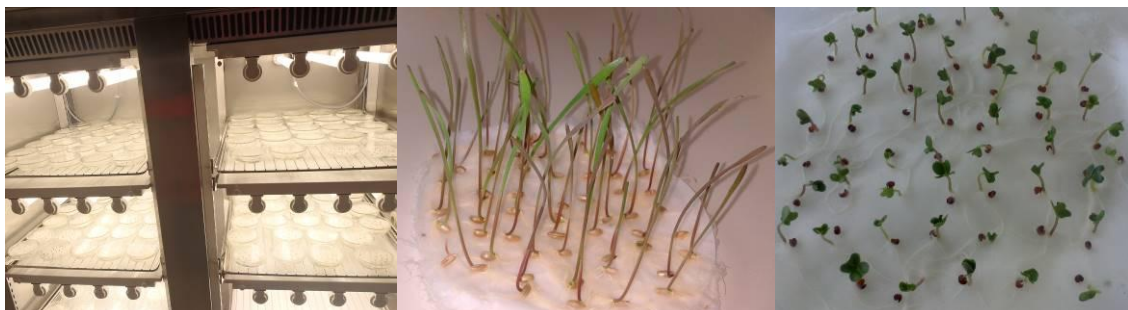


Figura 9 - Testes de germinação de sementes.

Figure 9 - Seed germination testing.

Determinação do teor de umidade das sementes

O teor de umidade é o fator que exerce maior influência na deterioração das amostras de sementes conservadas. A maioria das sementes apresenta elevada viabilidade, quando são mantidas com baixo teor de umidade.

No BPGV é utilizado um medidor de umidade, que fornece a leitura de umidade da amostra em poucos segundos para uma vasta gama de espécies.

Secagem das sementes

O objetivo da secagem é reduzir o teor hídrico das sementes para níveis mínimos de atividade metabólica que não afetem a viabilidade e evitem a rápida deterioração das sementes.

A secagem adequada é a chave para manter a qualidade e a viabilidade das sementes, através dela, conseguimos maximizar a longevidade das sementes da maioria das espécies.

A duração do período de secagem depende do tamanho das sementes, do tamanho da amostra, do teor de umidade inicial e do grau de umidade relativa (HR) do ambiente de secagem.

O método utilizado no BPGV consiste em introduzir as amostras numa câmara de secagem onde o material se encontra num ambiente com umidade baixa (15% HR),

temperatura média (15° C) e com circulação de ar, permitindo que as sementes baixem o seu conteúdo hídrico até entrarem em homeostasia com a humidade da câmara.

O teor de humidade das sementes que são conservadas em coleção a longo-prazo deve estar entre 3-7%, dependendo da espécie.

O teor de humidade das sementes que são conservadas em coleção a médio-prazo deve estar entre 7-11% se a composição química das sementes favorece o armazenamento (ex. cereais) e entre 3-8% se a composição química das sementes não favorece o armazenamento (ex. oleaginosas).

No BPGV, para prever o tempo de secagem mediante a perda de peso, utiliza-se a seguinte fórmula:

$$\text{Peso final da semente} = \frac{\text{Peso inicial das sementes} \times (100 - \text{Teor de humidade inicial})}{(100 - \text{Teor de humidade pretendido})}$$

Embalagem das sementes

As amostras de sementes são embaladas para evitar que absorvam água da atmosfera, separar acessos para evitar que se misturem e prevenir a contaminação com pragas e doenças. Os acessos são acondicionados em embalagens de acordo com o tipo de conservação. No BPGV para conservação a longo-prazo, utilizam-se sacos de alumínio com tripla laminação, bem selados, que evitam que as sementes embaladas absorvam água da atmosfera depois de secas. Para conservação a médio-prazo utilizam-se recipientes não herméticos (caixas de plástico) já que as amostras de sementes têm que estar disponíveis para distribuição, caracterização e avaliação.

Conservação das sementes

O segundo fator ambiental mais importante que influencia a longevidade das sementes ortodoxas é a temperatura. Baixas temperaturas de armazenamento prolongam a longevidade das sementes.

No BPGV os acessos são conservados *ex situ*, em câmaras de frio, em condições de médio-prazo com temperatura de 0 a 5° C e 45 % de humidade relativa e em condições de longo-prazo, com temperatura de -18° C (figura 10).

Amostras originais e duplicados de segurança são armazenados a longo-prazo. Amostras de sementes utilizadas para distribuição, caracterização e avaliação são conservadas a médio-prazo.

Segundo a FAO (2014) a conservação a longo-prazo é mandatória para todas as amostras originais e para os duplicados de segurança. Sempre que possível, pelo menos 50 sementes da amostra original devem ser preservadas na coleção base para efeitos de referência.

Com a conservação a longo-prazo as amostras de sementes mantêm alta qualidade durante longos períodos de tempo, cuja duração depende de cada espécie.

Com a conservação a médio-prazo consegue-se conservar as amostras de sementes viáveis durante 30 anos.



Figura 10 - Conservação a longo-prazo

Figure 10 - Long-term conservation

Quantidade de semente para conservação a longo-prazo

A quantidade mínima de sementes para conservação depende do número de sementes que se espera utilizar e do grau de uniformidade genética da amostra.

De acordo com FAO (2014), a quantidade de semente de um acesso para conservação a longo-prazo é de 1500 sementes para espécies autogâmicas e 3000 sementes para espécies alogâmicas.

Monitorização das sementes

A monitorização é a verificação periódica da qualidade da semente (viabilidade) e da quantidade (número e peso) dos acessos armazenados.

O controlo da viabilidade das sementes durante a conservação é realizado por meio dos testes de germinação, em intervalos de 5 anos no caso da coleção ativa e de 10

anos no caso da coleção base. O controlo da quantidade de semente disponível é realizado recorrendo à informação de inventário dos acessos que consta na base de dados do BPGV.

Regeneração / Multiplicação das sementes

Mesmo sob os mais altos padrões de conservação, a viabilidade dos acessos vai diminuindo com o tempo de armazenamento e a quantidade da amostra vai decrescendo, devido à monitorização da viabilidade e à distribuição de sementes.

A regeneração é realizada sempre que a viabilidade das sementes diminui e atinge um valor limite. A multiplicação é realizada sempre que o número de sementes provenientes das missões de colheita é insuficiente para conservação ou quando o número de sementes do acesso conservado atinge um valor limite. Na regeneração utiliza-se semente da amostra original e na multiplicação utiliza-se sementes da coleção de trabalho durante um máximo de cinco ciclos de multiplicação antes de voltar a utilizar a amostra original.

Os métodos utilizados na regeneração/multiplicação variam de espécie para espécie e dependem, entre outros fatores, do tamanho da população, do sistema de reprodução e da eficácia da polinização.

Durante a regeneração/multiplicação é essencial ter em conta o sistema de reprodução das espécies alvo. As espécies com autofecundação obrigatória e as espécies apomíticas não requerem polinização controlada, enquanto as espécies alogâmicas devem ser sujeitas à polinização manual.

Nas espécies alogâmicas é essencial utilizar métodos apropriados de isolamento (espacial, temporal, barreiras naturais ou mecânicas) durante a regeneração/multiplicação, para evitar o fluxo de genes e a contaminação entre os acessos. Nas espécies que dependem de polinizadores específicos é fundamental utilizar gaiolas de isolamento e os polinizadores correspondentes. Na falta de polinizadores, para espécies como a beringela, o tomate e o pimento, pode utilizar-se um soprador de ar para favorecer a polinização em ambientes fechados.

Os métodos e procedimentos aplicados no BPGV para a regeneração e a multiplicação fundamentam-se nas orientações e regras estabelecidas no âmbito do

Bioversity International (Engels & Rao, 1995; Hamilton & Chorlton, 1997) e do *European Native Seed Conservation Network* (ENSCONET, 2009).



Figura 11 - Métodos de controlo da polinização de espécies alogâmicas

Figure 11 - Control methods of pollination for allogamous species

Distribuição das sementes

A distribuição pode ser interna (dentro da instituição, para avaliação e monitorização) e externa (nacional e internacional, para reintrodução, investigação, avaliação e melhoramento).

Tendo em conta a soberania Nacional e os direitos de propriedade que regulamentam o uso de recursos genéticos, o BPGV observa o Tratado Internacional sobre Recursos Fitogenéticos para a Alimentação e a Agricultura, do qual Portugal é signatário, aplicando o articulado do Sistema Multilateral e, por isso, sempre que é solicitado material, as sementes são distribuídas ao abrigo dos termos de um acordo de transferência de material (ATM).

As amostras de sementes são enviadas em sacos de alumínio selado, acompanhadas da informação relevante.

Documentação e informatização

O registo da informação gerada com as atividades dos bancos de germoplasma é uma atividade fundamental para a conservação e gestão dos recursos genéticos vegetais.

Em 1991, o BPGV deu início à informatização das atividades relacionadas com as atividades de conservação do germoplasma, tendo desenvolvido bases de dados informatizadas, centralizadas por espécie, com o registo dos dados de passaporte,

caracterização, regeneração e multiplicação, germinação, conservação e intercâmbio, utilizando as tecnologias de informação disponíveis no mercado e adotadas pela instituição (Marcelino, 1996).

Nos últimos 3 anos o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I. P. (INIAV), com a assessoria da equipa de informática da Direção Regional de Agricultura de Pescas do Norte e do *Bioversity International* (Barata *et al.*, 2016; Bioversity International, 2015), organizou e importou a informação recolhida e guardada durante quatro décadas no BPGV para o GRIN GLOBAL, uma plataforma internacional desenvolvida num esforço conjunto pelo *Global Crop Diversity Trust*, *Bioversity International* e *Agricultural Research Service of the USDA*.

O novo sistema de documentação de recursos genéticos vegetais possibilita a gestão eficaz e dinâmica de toda a informação relacionada com a conservação dos recursos genéticos vegetais. Os dados de passaporte estão agora acessíveis ao público, à semelhança de outras estruturas afins, no endereço <http://bpgv.iniaiv.pt>. Estes dados são também carregados no *European Search Catalogue for Plant Genetic Resources* (EURISCO), que fornece informação sobre as coleções *ex situ*, de recursos fitogenéticos existentes nos bancos de germoplasma europeus ([http://eurisco.ipk-gatersleben.de/apex/f?p=103:10:::~::::](http://eurisco.ipk-gatersleben.de/apex/f?p=103:10:::)).

Os acessos são georreferenciados com recurso a sistemas de informação geográfica.

Os métodos e procedimentos aplicados no BPGV para esta área fundamentam-se nas orientações, normas e descritores estabelecidos no âmbito do *IBPGR*, *IPGRI*, atualmente *Bioversity International* (Alercia *et al.*, 2015; Bioversity International, 2017; Painting *et al.*, 1995).

Caraterização e avaliação

A caracterização e avaliação têm por objetivo determinar a expressão de caracteres altamente hereditários que vão desde características morfológicas e agronómicas até proteínas das sementes ou marcadores moleculares. Estes caracteres permitem de forma fácil e rápida, descrever, identificar e diferenciar os acessos de uma mesma espécie, determinar a sua utilidade, estrutura, correlações, localizar genes de

interesse para o melhoramento e estimar a diversidade genética dentro das coleções de germoplasma. A caracterização e avaliação dos recursos fitogenéticos influencia positivamente a utilização das coleções pelos utilizadores finais.

A caracterização e avaliação dos recursos fitogenéticos englobam a caracterização morfológica e agronómica e a caracterização bioquímica e molecular.

Na caracterização morfológica e agronómica, o BPGV utiliza os descritores específicos para as culturas ou grupo de culturas elaborados pelo *Bioversity International*, *European Cooperative Programme for Genetic Resources* e *International Union for the Protection of New Varieties of Plants* (Bioversity International, 2017; ECPGR, 2017; UPOV, 2017). Na caracterização bioquímica e molecular, utilizam-se diferentes marcadores propostos pelo *Bioversity International*, para avaliação da variabilidade genética do germoplasma (Bretting & Widrechner, 1995; Bioversity International, 2017; Karp *et al.*, 1997; Vicente *et al.*, 2004).

3 – CONCLUSÕES

O BPGV preserva coleções representativas de germoplasma dos mais importantes recursos agrícolas e de parentes silvestres das plantas cultivadas de Portugal continental e das Regiões Autónomas dos Açores e da Madeira. Este acervo tem uma importância estratégica para a segurança alimentar a nível nacional e global.

Ao longo de quatro décadas, o BPGV, tal como outras estruturas congéneres, tem respondido aos novos desafios da conservação dos recursos genéticos, alicerçando-se no saber e no saber fazer adquiridos, com o objetivo de proteger permanentemente estes recursos vitais para a segurança alimentar global, e incentivar a sua utilização pelos investigadores, melhoradores de plantas e agricultores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALERCIA, A., DIULGHEROFF, S. Y MACKAY, M. (2015). FAO/Bioversity Multi-Crop Passport Descriptors. FAO/Bioversity International, Rome, Italy. Available at:

<https://www.bioversityinternational.org/e-library/publications/detail/faobioversity-multi-crop-passport-descriptors-v21-mcpd-v21/> (accessed 12 June 2017).

BARATA, A.M., GASPAR C., ROCHA, F., LOPES, V. (2017). Banco Português de Germoplasma Vegetal - 40 anos da Conservação dos Recursos Genéticos em Portugal. *Cultivar*: 8 (85-90).

BARATA, A.M., ROCHA, F., OLIVEIRA, J., LIMA, J.M., NOBREGA, H., PINHEIRO DE CARVALHO, M.Â.A., DIAS, S. (2016). Implementation of a PGR Global Documentation System in Portugal. In N. Maxted, M. Ehsan Dulloo and B.V. Ford-Lloyd (eds) *Enhancing Crop GenePool Use: Capturing Wild Relative and Landrace Diversity for Crop Improvement*. CAB International. Chapter 41, pp. 441-452.

BRETTING, P.K. & WIDRLECHNER, M.P. (1995). Genetic markers and horticultural germplasm management. *HortScience* 30:1349–1356.

BIOVERSITY INTERNATIONAL. (2015). A new era of plant genetic resource management for Portugal. 24 Feb. 2015. Available at: <http://www.bioversityinternational.org/news/detail/a-new-era-of-plant-genetic-resource-management-for-portugal/> (accessed 19 June 2017).

BIOVERSITY INTERNATIONAL. (2017). Descriptors. Available at: <http://www.bioversityinternational.org/e-library/publications/descriptors/> (accessed 12 June 2017).

CROMARTY, A. S., ELLIS, R. H., ROBERTS, E. H. (1982). Handbooks for Genebanks: N° 1. The design of seeds storage facilities for genetic conservation. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy. 100 p.

ECPGR. (2017). Descriptors. Available at: <http://www.ecpgr.cgiar.org/working-groups/medicinal-and-aromatic-plants/medicinal-and-aromatic-plants-working-group-documents-and-publications-of-interest/> (accessed 12 June 2017).

ELLIS, R. H., HONG, T. D., ROBERTS, E. H. (1985a). Handbooks for Genebanks: N° 2. Handbook of seed technology for genebanks. Volume I. Principles and Methodology. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy. 210 p.

ELLIS, R. H., HONG, T. D., ROBERTS, E. H. (1985b). Handbooks for Genebanks: N° 3. Handbook of seed technology for genebanks. Volume II. Compendium of specific germination information and test recommendations. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy. 667 p.

ENGELS, J. M. M., & RAO, R. R. (1995). Regeneration of seed crops and their wild relatives. In Proceedings of a consultation meeting. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy. 167 p.

ENGELS, J.M.M. & VISSER L. (2003). *A guide to effective management of germplasm collections*. IPGRI Handbooks for Genebanks No. 6. IPGRI, Rome, Italy. 192 p.

ENSCONET. (2009). ENSCONET Curation Protocols & Recommendations. Royal Botanic Gardens, Kew. 45 p.

FAO. (2010). The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. Commission on genetic resources for food and agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 370 p.

FAO. (2014). Genebank standards for plant genetic resources for food and agriculture. Available at: <http://www.fao.org/docrep/019/i3704e/i3704e.pdf> (accessed 12 June 2017).

HAMILTON, N. S., & CHORLTON, K. H. (1997). Regeneration of accessions in seed collections: a decision guide. Handbook for genebanks n° 5. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy. 75 p.

ISTA. (2011). International Rules for Seed Testing 2011. International Seed Testing Association.

KARP, A., KRESOVICH, S., BHAT, K.V., AYAD, W.G., HODGKIN, T. (1997). Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies. IPGRI Technical Bulletin No. 2. IPGRI, Rome, Italy. 47 p.

MARCELINO, F. R. (1996). Documentação e Informação no BPGV. Princípios gerais. Actas da I Conferência técnica sobre recursos genéticos vegetais. Farias, R., Botelho, A. C.(eds.). DRAEDM, Braga, 103-110.

PAINTING, K. A., PERRY, M. C., DENNING, R. A., & AYAD, W. G. (1995). Guidebook for genetic resources documentation. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, 1-296. 295 p.

RAO, N.K., HANSON, J., DULLOO, M.E., GHOSH, K., NOWELL, D. & LARINDE, M. (2006). *Manual of seed handling in genebanks*. Handbooks for Genebanks No. 8. Bioversity International, Rome, Italy. 165 p.

ROCHA F., GASPAR C., BARATA A. M. (2017a). *The legacy of collecting missions to the valorisation of agro-biodiversity*, 63 (2): 25-38. DOI: 10.17707/AgricultForest.63.2.02

ROCHA, F.; GASPAR, C.; LOPES V. R.; BARATA A. M. (2017b). Medicinal and Aromatic Plants collecting missions in Portugal. *Arabian Journal of Medicinal & Aromatic Plants*: 3(1): 19-32.

UPOV. (2017). List all Test Guidelines by TG Reference. Available at: http://www.upov.int/test_guidelines/en/list.jsp (accessed 12 June 2017).

VICENTE, C. D., METZ, T., & ALERCIA, A. (2004). Descriptors for genetic markers technologies. International Plant Genetic Resources Institute, Rome Italy. 24 p.